

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Орлова Евгения Евгеньевича на тему

«Секретируемая металлопротеиназа Mmp3 как регулятор скейлинга системы морфогенетических градиентов белков BMP/Chordin/Noggin в раннем эмбриогенезе шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

Диссертационная работа Евгения Евгеньевича Орлова посвящена изучению процесса скейлинга, то есть масштабирования (переразметки) всех эмбриональных зачатков в эмбрионе при разделении его на несколько частей. При таком разделении некоторые типы эмбрионов восстанавливают утраченные части после деления, то есть регулируют свое развитие в зависимости от сильного внешнего воздействия. При этом у получившегося маленького зародыша пропорционально уменьшаются зачатки будущих органов. До недавнего времени изучение конкретных молекулярных механизмов таких регуляций было затруднено вследствие недостаточного набора методов, доступных эмбриологам. Сейчас, однако, появляются работы, в которых представлены конкретные механизмы или модели таких регуляций. Сотрудники лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза ИБХ РАН проанализировали эти модели с помощью численных методов, и пришли к выводу, что в таких моделях всегда будет присутствовать вещество, чья концентрация в маленьких эмбрионах будет в несколько раз изменяться. Авторы назвали такие вещества скейлерами, потому что они при этом являются модуляторами градиентов морфогенов в эмбрионе, что и приводит в результате к скейлингу. Но если в маленьких эмбрионах концентрация вещества сильно разнится, то можно попробовать найти такие вещества. Поиску таких скейлеров и доказательству их модуляционных свойств и посвящена данная диссертация. Для поиска скейлеров автор использовал метод вычитающего секвенирования мРНК в эмбрионах лягушки различного размера, которые получались с помощью деления бластомеров на ранней стадии. В результате секвенирования был получен наряду с некоторыми другими генами ген матричной металлопротеазы 3, и его решено было изучить далее. Поскольку экспрессия гена матричной металлопротеазы 3 (далее mmp3) в уменьшенных эмбрионах снижалась, то изучение влияния mmp3 на эмбрион проводилось с помощью нокдауна гена. Выяснилось, что нокдаун mmp3 приводит к переразметке дорзо-вентральной (спинно-брюшной) оси эмбрионов, а значит, изменение экспрессии mmp3 действительно может вызывать скейлинг у маленьких эмбрионов. Для надежного доказательства этого утверждения в работе изменяли экспрессию mmp3 в маленьких зародышах и показали, что усиление экспрессии mmp3 в маленьких зародышах приводило к эффекту, противоположному скейлингу – зачатки нервной пластинки и сомитной мезодермы расширялись. Далее в работе проводится исследование конкретного механизма функционирования mmp3 в эмбрионе. Поскольку дорзо-вентральную ось регулирует в основном BMP-сигнальный каскад, было предположено, что mmp3 влияет именно на секретируемые лиганды этого каскада. Анализируя с помощью вестерн-блоттинга деградацию полос экспрессии различных белков, было показано, что в эмбрионе лягушки у mmp3 есть по крайней мере 2 субстрата: белки-антагонисты BMP-каскада Noggin1/2 и протеаза Tolloid-like1, которая в свою очередь расщепляет белок-антагонист BMP-каскада Chordin. Кроме того, в работе дифференциально определены роли для Noggin1/2 и Chordin в скейлинге: Noggin1/2 отвечает за регуляцию размера хорды, а Chordin – за сомиты и нервную пластинку. Наконец, влияние mmp3 на регуляцию градиента BMP-каскада показано в работе напрямую с помощью окрашивания на фосфорилированные белки Smad1/5 – известные

транскрипционные факторы BMP-каскада. Таким образом, в работе делается правомерный вывод, что матриксная металлопротеаза 3 действительно является скейлером в эмбрионах шпорцевой лягушки. Это значит, что подобные белки-скейлеры могут быть обнаружены в и других модельных объектах, что придает работе дополнительную ценность.

По прочтении автореферата диссертационной работы сколь либо существенных замечаний к экспериментальной части нет. К тексту также нет нареканий.

Таким образом, диссертационная работа «Секретируемая металлопротеиназа Mmp3 как регулятор скейлинга системы морфогенетических градиентов белков BMP/Chordin/Noggin в раннем эмбриогенезе шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*» соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. №1539), а Евгений Евгеньевич несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

К.б.н., и.о. заведующего

Гурская Надежда Георгиевна

Отделом регенеративной медицины

Федерального государственного автономного

образовательного учреждения высшего

М.П. _____

образования "Российский национальный

исследовательский медицинский университет

«08» февраля 2024 года

имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения

Российской Федерации

117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 1,

каб. 229-231, 241-251

ngurskaya@mail.ru

Подпись Гурской Н.Г. заверяю.

Ученый секретарь Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

К.м.н., доцент

Демина Ольга Михайловна

